

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 617.001.36-089.5-031.81]-06:616.36-085

© А. А. ГУДИМА, В. В. ЯРЕМА

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

## Динаміка показників вільнорадикального окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у тварин із різною метаболізувальною здатністю печінки у ранньому періоді політравми

A. A. HUDYMA, V. V. YAREMA

SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky"

### DYNAMICS OF INDICES OF LIPID PEROXIDE OXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION OF ANIMALS WITH A DIFFERENT METABOLIC ABILITY OF THE LIVER IN THE EARLY PERIOD OF POLYTRAUMA

У тварин зі зниженою метаболізувальною здатністю печінки у ранній період політравми відмічається більша інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та знижена активність антиоксидантного захисту, що створює несприятливі передумови для перебігу травматичної хвороби і вимагає подальшого вивчення для оптимізації методів патогенетичної терапії.

In animals with the decreased liver metabolic capacity in the early period of polytrauma was observed higher intensity of processes of lipids peroxide oxidation and reduced antioxidant activity, which creates negative conditions for the course of traumatic disease and requires further studying in order to optimize the methods of pathogenetic therapy.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Печінка відіграє ключову роль у знешкодженні токсинів ендо- й екзогенного походження, в тому числі й фармакологічних препаратів. Основним елементом апарату детоксикації печінки є мікросомальна система, яка пов'язана із гладкою ендоплазматичною сіткою і містить великий набір ферментів, здатних до біотрансформації будь-яких хімічних сполук [2, 10]. На сьогодні доведено наявність їхнього генетичного поліморфізму, що робить кожного індивідуума нерівнозначним за детоксикаційними можливостями печінки [12].

Політравма характеризується значним пошкодженням тканин організму, порушенням мікроциркуляції, гіпоксією, інтенсифікацією вільнорадикального окиснення ліпідів, деструкцією клітинних мембран, накопиченням медіаторів запалення та ендотоксинів із формуванням системної реакції організму на запалення і розвитком поліорганної дисфункції та недостатності [4, 8]. На сьогодні недостатньо вивченими залишаються патогенетичні особливості перебігу травматичної хвороби в умовах різної метаболізувальної здатності печінки, що тим більше важливо, оскільки лікування політравми супроводжується інтенсивною фармакотерапією.

**Мета роботи:** з'ясувати особливості пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту на тлі політравми в динаміці раннього посттравматичного періоду.

**Матеріали і методи.** Експерименти виконані на 114 нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Всіх тварин попередньо було розподілено на швидко- і повільнометаболізуючих (ШМБ- і ПМБ-щури) залежно від тривалості сну після введення тіопенталу натрію [11].

Усім тваринам моделювали політравму за методикою Козак Д. В. (2010) [7]. Через 2 год, 1, 3 і 7 діб після травми тварин в умовах знеболювання умиряли методом тотального кровопускання із серця. В отриманій сироватці крові встановлювали загальну пероксидазну активність крові (ЗПА) [9] та вміст церулоплазміну (ЦП) [5], у гомогенаті печінки вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ [3] та SH-груп [1]. Відмінності між групами порівняння встановлювали відповідно до рекомендацій [6].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Як видно з рисунка 1, вміст ТБК-активних продуктів

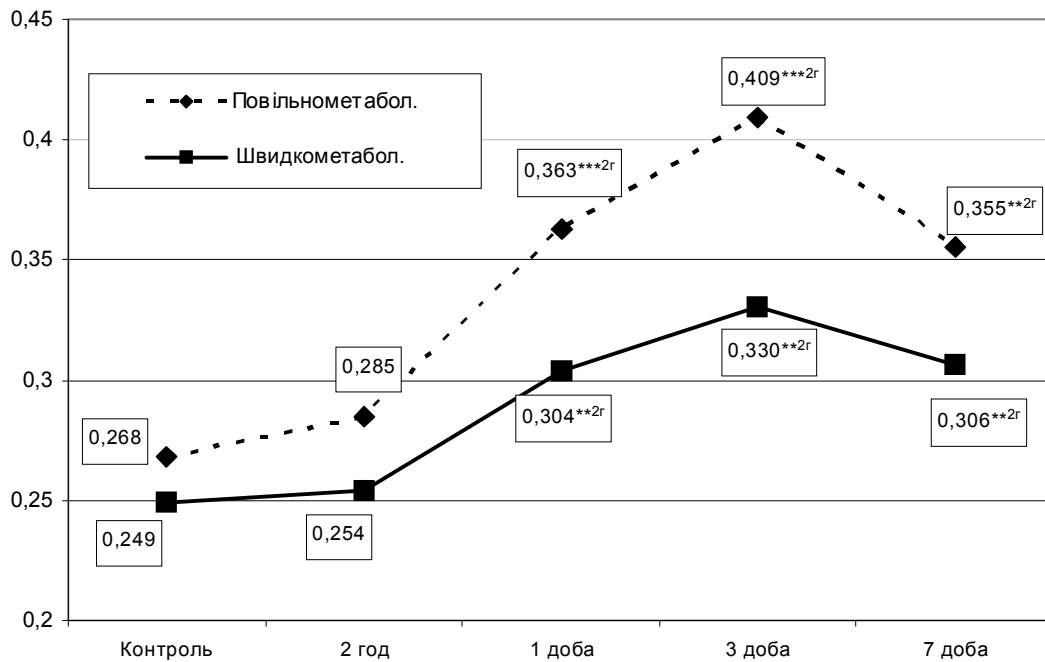


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки швидко- і повільнометаболізуючих щурів у динаміці раннього посттравматичного періоду політравми (тут і в наступних рисунках #, \* – достовірність відмінностей стосовно контролю (# –  $p < 0,10$ ; \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ); <sup>2г, 1д, 3д</sup> – відмінності стосовно другої години експерименту, першої і третьої діб статистично достовірні ( $p \leq 0,05$ ); р – вірогідність відмінностей стосовно груп швидко- і повільнометаболізуючих щурів).

ПОЛ у гомогенаті печінки контрольних тварин із різною метаболізуальною здатністю печінки істотно не відрізнявся. Через 2 год після травми показники збільшувалися в обох групах, проте відмінності виявилися статистично не достовірними стосовно попереднього терміну спостереження. Разом з тим, у ПМБ-щурів даний показник на 2 год експерименту ставав статистично достовірною більшим, ніж у ШМБ-щурів (на 12,2 %,  $p < 0,05$ ).

На 1–3 доби експерименту в обох групах вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ збільшувався, досягаючи свого максимуму: у ПМБ-щурів – на 52,6 % стосовно контролю ( $p < 0,001$ ), у ШМБ-щурів – на 32,5 % ( $p < 0,01$ ). В ці терміни спостереження величина досліджуваного показника у ПМБ-щурів була істотно більшою, ніж у ШМБ-щурів. Так, на 3-тю добу експерименту, коли активність ПОЛ досягала максимального рівня, вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у ПМБ-щурів перевищував ШМБ-щурів на 23,9 % ( $p < 0,001$ ).

На 7-му добу експерименту даний показник знижувався в обох групах: у ПМБ-щурів на 13,2 %, у ШМБ-щурів – на 7,3 %, проте результат виявився статистично не достовірним. Звертає на себе увагу той факт, що на 1–7-му доби в кожній із груп не спостерігалось істотних відмінностей за величиною досліджуваного показника, що дозволяє стверджувати досягнення ним свого максимуму з подальшою стабілізацією на 1–7-му доби, що було істотно більшим у ПМБ-щурів.

Величина ЗПА у крові контрольних тварин істотно не відрізнялася (рис. 2). Через 2 год після травми у ПМБ-щурів величина ЗПА збільшувалася стосовно контролю у 2,04 раза ( $p < 0,001$ ) і залишалася практично на тому ж рівні через 1 добу експерименту. У ШМБ-щурів – через 2 год величина ЗПА у крові зростала у 3,30 раза ( $p < 0,001$ ), проте через 1 добу суттєво знижувалася (на 19,0 %,  $p \leq 0,05$ ), однак залишалася суттєво вищою, ніж у ПМБ-щурів (на 34,1 %,  $p < 0,01$ ).

На 3-тю добу експерименту рівень ЗПА у крові в обох групах порівняння істотно знизився: стосовно попереднього терміну спостереження у ПМБ-щурів – на 51,0 % ( $p \leq 0,05$ ), що досягло практично рівня контролю; у ШМБ-щурів – на 34,7 %, ( $p \leq 0,05$ ). При цьому ЗПА у крові ШМБ-щурів продовжувала залишатися суттєво більшою, ніж ПМБ-щурів (на 78,6 %,  $p < 0,001$ ).

На 7-му добу експерименту рівень ЗПА у крові зростав в обох групах: у ПМБ-щурів стосовно попереднього терміну спостереження – на 49,2 % ( $p \leq 0,05$ ), що мало тенденцію до більшої величини порівняно із контролем ( $p < 0,10$ ); у ШМБ-щурів – на 35,2 % ( $p \leq 0,05$ ) стосовно попереднього терміну і у 2,36 раза стосовно контролю ( $p < 0,001$ ). В цей термін спостереження величина ЗПА у крові ШМБ-щурів була істотно більшою, ніж у ПМБ-щурів (на 61,8 %,  $p < 0,01$ ).

Вміст SH-груп у гомогенаті печінки контрольних тварин (рис. 3) статистично достовірно

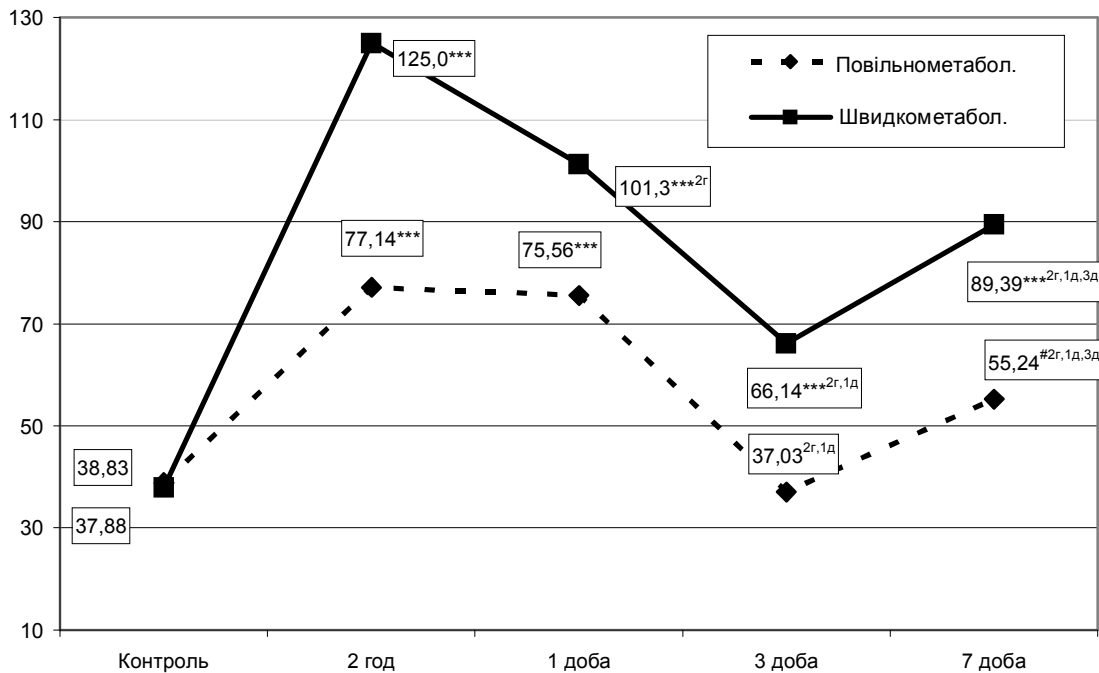


Рис. 2. ЗПА у крові швидко- і повільнометаболізуючих щурів у динаміці раннього посттравматичного періоду політравми.

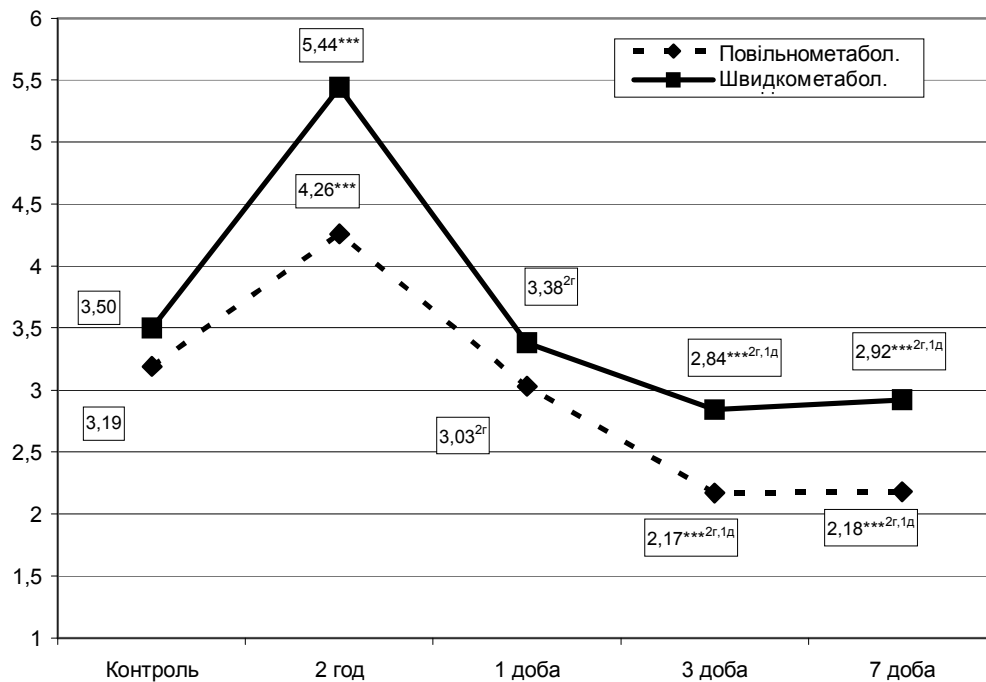


Рис. 3. Вміст SH-груп гомогенату печінки швидко- і повільнометаболізуючих щурів у динаміці раннього посттравматичного періоду політравми.

переважав у ШМБ-тварин (на 9,7 %,  $p < 0,01$ ). Під впливом травми через 2 год величина даного показника вірогідно збільшувалася в обох дослідних групах стосовно контролю: у ШМБ-щурів – на 55,4 % ( $p < 0,001$ ), у ПМБ-щурів – на 33,5 % ( $p < 0,001$ ). При цьому рівень даного показника істотно перевищував аналогічний у ШМБ-щурів (на 27,7 %,  $p < 0,01$ ).

Через 1 добу після травми вміст SH-груп гомогенату печінки суттєво знижувався стосовно попереднього терміну спостереження як у ШМБ-, так і ПМБ-щурів ( $p < 0,05$ ), практично досягаючи рівня контрольних тварин. Незважаючи на це, величина даного показника у ШМБ-щурів продовжувала бути статистично достовірно більшою, ніж у ПМБ-щурів (на 11,6 %,  $p < 0,05$ ).

У подальшому вміст SH-груп в обох дослідних групах знижувався і ставав статистично достовірно меншим, ніж у контролі: у ШМБ-щурів на 3-тю добу на 18,9 % ( $p < 0,001$ ), на 7-му добу – на 16,6 % ( $p < 0,001$ ); у ПМБ-щурів – на 3-тю добу – на 32,0 % ( $p < 0,001$ ), на 7-му добу – на 31,7 % ( $p < 0,001$ ). Слід відмітити, що величини даного показника, визначені на 3-тю і 7-му доби у дослідних групах виявилися також статистично достовірно меншими

стосовно попередніх термінів спостереження – на 2-гу год і 1-шу добу посттравматичного періоду ( $p \leq 0,05$ ). При цьому вміст SH-груп у гомогенаті печінки ШМБ-щурів явно перевищував аналогічний ПМБ-щурів: на 3-тю добу – на 30,9 % ( $p < 0,001$ ), на 7-му добу – на 33,9 % ( $p < 0,01$ ).

Вміст ЦП сироватки крові (рис. 4) у контролі у ШМБ-щурів був статистично достовірно меншим, ніж у ПМБ-щурів (на 11,4 %,  $p < 0,05$ ).

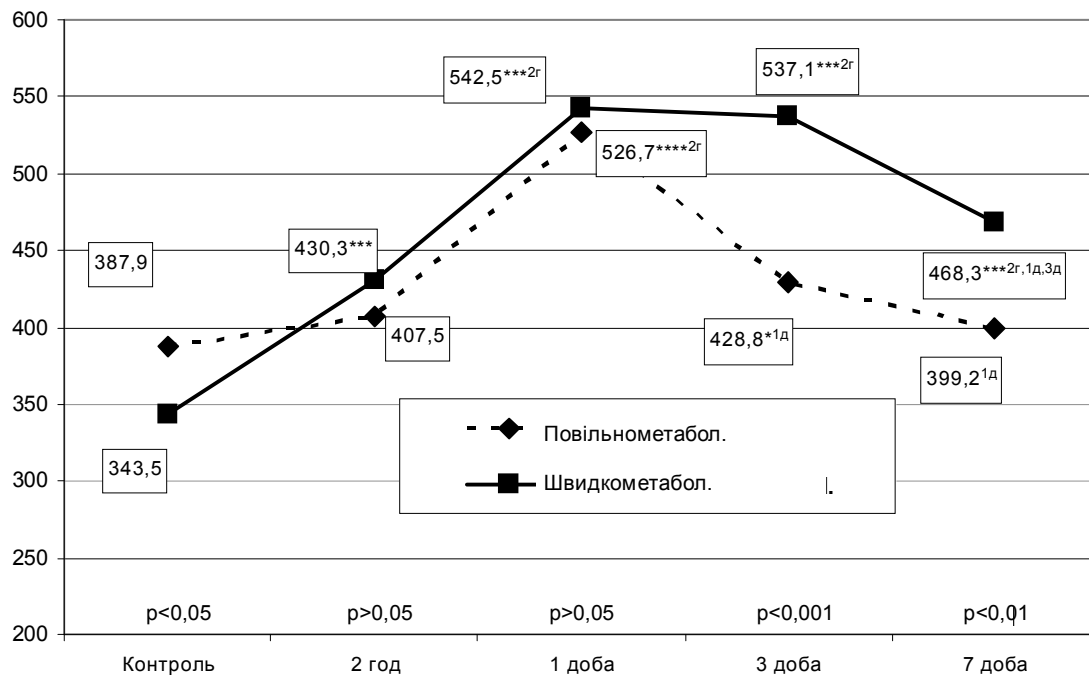


Рис. 4. Вміст ЦП сироватки крові швидко- і повільнометаболізуювальних щурів у динаміці раннього посттравматичного періоду політравми.

Під впливом травми через 2 год величина досліджуваного показника стосовно контрольної групи зростала в обох дослідних групах: у ШМБ-щурів – на 25,3 % ( $p < 0,001$ ) у ПМБ-щурів – на 5,0 %, що виявилось статистично не достовірно ( $p > 0,05$ ). Через 1 добу після травми вміст у сироватці крові ЦП продовжував збільшуватися: у ШМБ щурів порівняно із контролем – на 57,9 % ( $p < 0,001$ ), порівняно із попереднім терміном після травми – на 26,1 % ( $p \leq 0,05$ ); у ПМБ-щурів, відповідно, на 35,8 % ( $p < 0,001$ ) і 29,5 % ( $p \leq 0,05$ ). Відмінності за величиною даного показника між дослідними групами на 1-шу добу посттравматичного періоду виявилися статистично не достовірні ( $p > 0,05$ ).

На 3-тю добу експерименту в ШМБ-щурів величина досліджуваного показника продовжувала перебувати майже на попередньому рівні, тоді як у ПМБ-щурів – статистично достовірно знижувалася порівняно із попереднім терміном спостереження – на 18,6 % ( $p \leq 0,05$ ), проте продовжувала залишатися підвищеною стосовно контрольної групи (на 10,5 %,  $p < 0,05$ ). У ШМБ-щурів рівень ЦП

сироватки крові в цей термін спостереження виявився істотно більшим, ніж у ПМБ-щурів (на 25,2 %,  $p < 0,001$ ).

На 7-му добу посттравматичного періоду вміст ЦП у сироватці крові знижувався стосовно попереднього терміну спостереження в обох дослідних групах: у ШМБ-щурів – на 12,8 % ( $p \leq 0,05$ ), у ПМБ-щурів – на 6,9 %, що виявилось не достовірним ( $p > 0,05$ ). При цьому в ПМБ-щурів рівень даного показника досягав контрольного, а у ШМБ-щурів був істотно вищим – на 36,3 % ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, у ПМБ- і ШМБ-щурів відмічаються значні відмінності в динаміці показників ПОЛ та антиоксидантного захисту у відповідь на політравму. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ до 3-ї доби посттравматичного періоду збільшується, а на 7-му добу знижується. У ПМБ-щурів амплітуда відхилення даного показника, починаючи із 2 год після травми, істотно більша, ніж ШМБ-щурів, що вказує на тяжчий перебіг травматичної хвороби та недосконалість системи антиоксидантного захисту. Останнє було підтверджено дина-

мікою показників антиоксидантного захисту. У відповідь на травму відмічається два епізоди збільшення ЗПА крові – на 1-шу добу посттравматичного періоду і на 7-му добу з меншою інтенсивністю. Особливістю динаміки ЗПА крові ПМБ-щурів є істотно менша амплітуда відхилень досліджуваного показника. Це вказує на нижчу здатність до нейтралізації перекису водню, який належить до проміжних метаболітів активних форм кисню, у крові ПМБ-щурів. Рівень SH-груп під впливом травми у щурів з різною метаболізувальною здатністю печінки збільшується через 2 год після травми, з подальшим зниженням, стаючи меншим від контролю на 3-тю і 7-му доби посттравматичного періоду, що виявилось більш вираженим у ПМБ-щурів. Отже, на тлі зниженої метаболізувальної здатності гепатоцитів у тварин швидше виснажується система відновленого глутатіону, дія якої спрямована не тільки на нейтралізацію вільних радикалів, але й зв'язування ендотоксинів [8].

Вміст ЦП сироватки крові під впливом травми у щурів незалежно від метаболізувальної здатності збільшується до 3-ї доби з подальшим зниженням, яке виявилось найбільшим у ПМБ-тварин. Отже,

синтез одного із основних антиоксидантів плазми крові ЦП теж зменшений у ПМБ-щурів. Можна припустити, що знижена метаболізувальна здатність гепатоцитів спряжена із меншою потужністю системи антиоксидантного захисту організму – одного із універсальних саногенних механізмів.

**Висновки.** 1. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантного захисту істотно відрізняється у тварин із різною метаболізувальною здатністю печінки у ранній період політравми і супроводжується більшим зростанням вмісту в гомогенаті печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ, зменшенням вмісту SH-груп, нижчою загальною пероксидазною активністю крові та меншим вмістом у сироватці крові церулоплазміну.

2. Виявлена динаміка показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту створює несприятливі передумови для перебігу травматичної хвороби у тварин із нижчою метаболізувальною здатністю печінки, що вимагає подальшого вивчення й оптимізації методів патогенетичної терапії.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вережкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты / И. В. Вережкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современные методы биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 223–231.
2. Головенко Н. Я. Некоторые аспекты биохимии, химии, молекулярной биологии и генетики цитохрома P-450 (обзор литературы) / Н. Я. Головенко // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 3. – С. 17–22.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації ; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / [В. Н. Ельский, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин и др.]. – Донецк : ООО “Лебедь”, 2002. – 360 с.
5. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. школа, 1990. – 352 с.
7. Пат. 63997 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання

- політравми / Козак Д. В.; заявник і патентовласник Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № 201104110 ; заявл. 05.04.11 ; опубл. 25.10.11, Бюл. 20.
8. Петухова О. В. Содержание липопротеидов и продуктов перекисного окисления липидов у больных в остром периоде политравмы / О. В. Петухова, И. М. Устьянцева, В. В. Агаджанян // Политравма. – 2006. – № 3. – С. 65–68.
9. Попов Т. Метод определения пероксидазной активности крови / Т. Попов, Л. Нейковска // Гигиена и санитария. – 1971. – № 10. – С. 89–91.
10. Чекман И. С. Микросомальная ферментная система организма / И. С. Чекман, К. А. Посохова, Е. Г. Береговая. – К., 1996. – 80 с.
11. Ярема В. В. Метаболізувальна функція печінки здорових лабораторних щурів за тестом з тіопенталом натрію / В. В. Ярема // XV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 31 березня – 2 квітня 2011 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2011. – С. 96.
12. Weber W. Populations and genetic polymorphisms / W. Weber // Mol. Diagn. – 1999. – 4 (4). – P. 299–307.

Отримано 10.08.12